Aus dem Physiologischen Institut der Universität Greifswald

Untersuchungen über Racemisierung von Aminosäuren

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

der Hohen Medizinischen Fakultät
der Universität Greifswald

vorgelegt von

Dr. phil. Werner Jansen
aus Wülfrath

Greifswald
Buchdruckerei Hans Adler Inh.: E. Panzig & Co.
1930

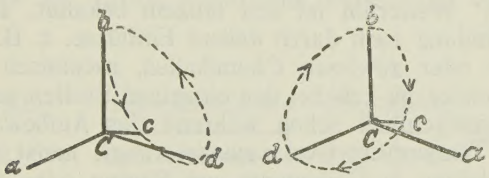
Eingereicht im Oktober 1930

Gedruckt mit Genehmigung
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Universität Greifswald

Dekan: Professor Dr. Dresel
Referent: Professor Dr. Wrede
Korreferent: Professor Dr. Steinhausen

Die Eigenschaft gewisser Stoffe, die Ebene eines durch sie hindurchgeleiteten polarisierten Lichtstrahls zu drehen, heißt optische Aktivität. Sie wurde zuerst von Biot 1815 an Terpenen beobachtet. Eine Erklärung der Erscheinung blieb van't Hoff und Le Bel vorbehalten, die im Jahre 1874 die Lehre von der Raumisomerie und vom asymmetrischen Kohlenstoffatom aufstellten. Die anfangs stark bekämpfte Lehre wurde in der Folge durch tausende von Beispielen befestigt: es zeigte sich in fast allen Fällen, daß die auf Grund der Konstitutionsformel eines Stoffes zu erwartende optische Aktivität wirklich vorhanden war.

Optisch aktiv sind solche organischen Körper, die ein asymmetrisches Kohlenstoffatom enthalten. Van't Hoff nennt ein Kohlenstoffatom asymmetrisch, wenn dessen vier Valenzen durch vier *verschiedene* Radikale oder Atome abgesättigt sind. In dem vierwertigen Kohlenstoff liegen die vier Valenzen nicht in einer Ebene. Um ein Bild dieser Verhältnisse zu bekommen, stelle man sich ein Kohlenstoffatom in den Mittelpunkt eines regulären Tetraeders und seine vier Valenzen in dessen Ecken verlegt vor:



Wenn man vier *verschiedene* Gruppen a, b, c, d in diese Ecken einsetzt, erhält man Figur I. Vertauscht man z. B. a und d, so erhält man Figur II als das Spiegelbild von I. Eine dieser beiden Verbindungen dreht die Ebene des polarisierten Lichts nach rechts, die andere nach links. — Die optisch aktiven Stoffe werden von der lebenden Zelle gebildet. Zahlreiche Verbindungen mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen sind allerdings auch synthetisch dargestellt worden; sie waren, wie aus theoretischen Überlegungen zu erwarten, optisch inaktiv, ließen sich aber durch gewisse Methoden in zwei optisch aktive Komponenten zerlegen, in die d- und l-Formen („dextro"- und „laevo"-). Diese waren dann den im Organismus gefundenen Stoffen gleich. Die synthetisch erhaltenen optisch inaktiven

Körper mit asymmetrischen Kohlenstoffen sind Gemische gleicher Teile rechts- und linksdrehender Verbindungen. Solche Gemische heißen „racemisch" (von acidum racemicum = Traubensäure).

Der Lösung einer optisch aktiven Substanz ist ein bestimmter Drehwinkel eigen. Er hängt ab von der Konzentration der Lösung, von der Schichtdicke, die der Lichtstrahl durchwandern muß, von der Art des Lösungsmittels, von der Temperatur und, im geringen Maße, auch von der Lichtart. Unter „spezifischer Drehung" einer Verbindung, $[\alpha]$, versteht man nach Biot denjenigen Drehungswinkel, welchen eine Flüssigkeit erzeugen muß, wenn sie in 1 ccm 1 g optisch aktive Substanz gelöst enthält und in einer Schicht von 1 dcm Länge auf den polarisierten Strahl wirkt. Für die spezifische Drehung ergibt sich die Formel:

$$[\alpha] = \frac{\alpha \cdot 100}{c.\ l.}$$

wobei α den abgelesenen Drehwinkel, l die Länge des Polarisationsrohres in dcm, c die Konzentration bedeutet*). Die Untersuchung wird meist mit homogenem Licht, und zwar dem der Natriumflamme (D-Licht) und bei Zimmertemperatur (20°) vorgenommen: $[\alpha]_D^{20}$.

Die Racemform (rac- oder d,l-Form) einer Verbindung mit asymmetrischem Kohlenstoffatom kann durch Vermischen gleicher Teile rechts- und linksdrehender Formen derselben Substanz erhalten werden. Weiterhin ist seit langem bekannt, daß eine optisch aktive Verbindung auch durch äußere Einflüsse, z. B. durch Erhitzen mit Wasser oder gewissen Chemikalien, racemisch werden kann. Diese Racemisierung geht bei den einzelnen Stoffen verschieden leicht vor sich, gelegentlich schon während des Aufbewahrens bei gewöhnlicher Temperatur (Autoracemisierung), meist aber erst durch längeres Erhitzen in Gegenwart von Säuren oder Alkalien auf höhere Temperaturen. Früher erklärte man den Vorgang so: „— — daß unter dem Einfluß höherer Temperaturen eine wechselseitige Umwandlung von Molekülen der d-Form und solche der l-Form und umgekehrt erfolgt, weil die einzelnen Atome bezw. Gruppen (z. B. a und b) bei den Bewegungen um ihre Gleichgewichtslagen so große Amplituden erreichen, daß sie mit anderen ihre Gleichgewichtslagen vertauschen. — — Mit der Inaktivität ist also ein Gleichgewichtszustand zwischen der d- und l-Form erreicht[1])."

---

*) Für meine Versuche verwandte ich die bequemere, wenn auch nicht ganz korrekte Formel:

$$[\alpha]_D = \frac{\alpha.\ \text{Lösungsmittelvolum}}{\text{l. Substanzgewicht}}$$

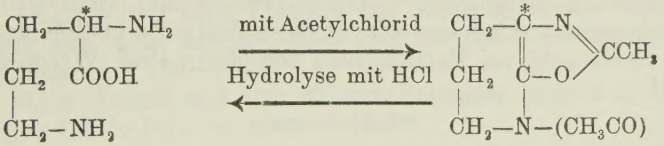
1) Meyer-Jacobson, Lehrbuch der organischen Chemie.

Diese Ansicht in ihrer grob mechanischen Auffassung entbehrt der Überzeugungskraft: das Auseinanderreißen von Valenzen müßte zu einer Fülle weiterer Reaktionen Veranlassung geben, die jedoch nicht beobachtet wurden.

Neuerdings hat man sich andere Vorstellungen über den Mechanismus der Racemisation gebildet. Danach sollen sich Moleküle der aktiven Substanz untereinander oder mit irgendwelchen anderen Molekülen vorübergehend zu ringförmigen Verbindungen zusammenlegen, in denen das asymmetrische Kohlenstoffatom verschwindet. Diese nun inaktiv gewordene, ringförmige, unstabile Verbindung wird dann wieder auseinandergesprengt, wobei dann die ursprünglichen Verbindungen regeneriert werden, aber natürlich in Form ihrer Racemate. Schematisch ließe sich das folgendermaßen darstellen: 1. aktive Substanz, 2. aktives, ringförmiges Kondensationsprodukt, 3. racemisches ringförmiges Kondensationsprodukt, 4. racemische ursprüngliche Substanz[2]).

Für diese Anschauung ist es von großer Wichtigkeit, daß der Beweis für das Vorhandensein der Zwischenformen (2 oder 3) erbracht werden kann. Dies ist nur in sehr wenigen Fällen bisher geglückt.

Vor kurzem gelang es Wrede[3]), bei zwei aus Eiweiß gewonnenen optisch aktiven Aminosäuren (d-Lysin und d-Ornithin) solche Zwischenformen zu isolieren. d-Ornithin (Formel I) gibt bei kurzem Erhitzen auf 100° mit Acetylchlorid eine Verbindung von der Formel II:



I II

In dieser Verbindung II ist das asymmetrische Kohlenstoffatom C* nicht mehr vorhanden, sie ist optisch inaktiv. Verbindung II geht beim kurzen Kochen mit Salzsäure wieder in Ornithin über, und zwar in racemisches. Die Verbindung II ließ sich in reiner, kristallisierter Form gewinnen. — Analoge Verhältnisse wurden von Wrede beim d-Lysin beobachtet. — Diese Methode — Erhitzen mit Acetylchlorid und nachträgliches Kochen mit Salzsäure — bietet also

---

2) Zahlreiche Arbeiten von Abderhalden, Bergmann, Dakin, Karrer, Leuchs, Levene, Mc Kenzie, s. S. 15.

3) Noch unveröffentlichte Arbeit.

eine verhältnismäßig einfache Möglichkeit, racemisches Lysin und Ornithin darzustellen.

Mir war die Aufgabe gestellt, diese Reaktion bei einer Reihe anderer Aminosäuren zu prüfen. Die Wichtigkeit dieser Untersuchungen liegen auf der Hand: sie fördern die theoretische Erkenntnis der Racemisation und geben u. U. die Möglichkeit, auf einfache Weise racemische Aminosäuren darzustellen, die oft zu wissenschaftlichen Untersuchungen gebraucht werden und deren Herstellung bislang häufig sehr umständlich war (Erhitzen mit Säuren oder Basen während vieler Stunden auf 150—200°!) Bei einigen Aminosäuren war bisher eine Racemisierung überhaupt noch nicht möglich, z. B. bei Oxyprolin. Das d, l-Oxyprolin konnte nur auf schwierigem, synthetischen Wege erhalten werden[4]).

Die folgenden Versuche zeigen, daß tatsächlich die meisten zur Untersuchung herangezogenen optisch aktiven Aminosäuren (außer Cystin) beim Behandeln mit Acetylchlorid und Essigsäure in überraschend kurzer Zeit ihre optische Aktivität verlieren. In einigen Fällen (Leucin, Ornithin, Lysin, Tyrosin, Oxyprolin) wurde die Aminosäure isoliert und durch ihre Eigenschaften und Analyse als solche erkannt. Höchstwahrscheinlich gilt also der von Wrede bei Lysin und Ornithin aufgeklärte Racemisationsmechanismus auch für die anderen Aminosäuren.

Es lag mir nicht ob, den Mechanismus der erwähnten Reaktion weiter zu studieren; meine Arbeit sollte lediglich eine *Grundlage für weitere Untersuchungen* über diesen fesselnden Gegenstand sein. Bei diesen die entsprechenden Zwischenprodukte zu erfassen, bleibt weiterer Forschung vorbehalten. — Die Reaktionen und polarimetrischen Untersuchungen wurden von mir im physiologischen Institut der Universität Greifswald auf Veranlassung von Herrn Prof. Wrede durchgeführt[5]).

Methodischer Teil.

Die verwendeten Aminosäuren werden vor jeder Reaktion auf ihre Drehung geprüft (in 10%iger Salzsäure; Leucin, Tyrosin und Prolin in 20%iger Salzsäure, Tryptophan in n-Natronlauge). Dann werden meist 0,1 g der Aminosäure mit 2 ccm eines Gemisches gleicher Teile Eisessig und Acetylchlorid in einem zugeschmolzenen Glasröhrchen im Wasserbad auf 100° erhitzt. Der Rohrinhalt wird in einem Kölbchen im Vakuum unter leichtem Erwärmen abgedampft,

4) Leuchs, Chem. Ber. 38, 1937, (1905).

5) Die angeführten C-, H-, Cu- und N-Analysen wurden auf Wunsch von Herrn Professor Wrede hier aufgenommen. Ihre Durchführung stammt nicht von mir.

der Rückstand mit 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst. (Lösungsmittel für Leucin, Tyrosin, Prolin und Tryptophan s. o.). War die Lösung bräunlich gefärbt, so wurde sie mit etwas Tierkohle kurz aufgekocht. Vor dem Einfüllen in das Polarisationsrohr wurde die Lösung grundsätzlich durch ein Kieselgurfilter gesaugt. Die Polarisation wurde stets im 2 dcm-Rohr vorgenommen.

Alanin.

Nach Angabe der Literatur[1]) muß man d-Alanin mit Barytwasser längere Zeit auf 180° erhitzen, um es zu racemisieren.

0,1 g kristallisiertes freies d-Alanin in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst zeigten im 2 dcm-Rohr: $\alpha = +0{,}87^0$; $[\alpha]_D$ = etwa $+13^0$.

1. Versuch: 0,1 g d-Alanin werden mit 2 ccm Acetylchloridgemisch 2 Stunden auf 100° erhitzt. Die Lösung wird abgedampft, der Rückstand in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst: $\alpha = 0^0$.

2. Versuch: 0,1 g d-Alanin werden ebenso nur 30 Minuten erhitzt. Die Lösung in Salzsäure zeigt: $\alpha = 0^0$.

3. Versuch: 0,1 g d-Alanin werden im Acetylchloridgemisch 4 Stunden bei 20° aufbewahrt. Die Drehung in 10%iger Salzsäure ist kaum verändert.

Die Versuche lehren, daß d-Alanin unter den geschilderten Verhältnissen schon bei halbstündigem Erhitzen seine optische Aktivität verliert, nicht aber bei Zimmertemperatur.

Leucin.

l-Leucin soll beim Erhitzen mit Säure überhaupt nicht racemisierbar sein, wohl dagegen beim Erhitzen mit Barytwasser während 24 Stunden auf 170—175°.

0,1 g l-Leucin in 3 ccm 20%iger Salzsäure zeigten im 2 dcm-Rohr $\alpha = +1{,}03^0$; $[\alpha]_D$ = etwa $+15{,}5^0$.

1. Versuch: 0,1 g l-Leucin mit Acetylchloridgemisch 2 Stunden auf 100° erhitzt und wie oben weiter verarbeitet, zeigen in 20%iger Salzsäure: $\alpha = 0^0$.

2. Versuch: Ebenso 30 Minuten erhitzt: $\alpha = 0^0$.

l-Leucin wird also bereits nach halbstündigem Erhitzen optisch inaktiv.

Aus dem Reaktionsprodukt läßt sich racemisches Leucin in Substanz folgendermaßen isolieren: Der durch Abdampfen des Acetylchlorids und der Essigsäure gewonnene Rückstand wird 4 Stunden

1) Die Angaben über die Racemisation sind aus der „Physiologisch- und Pathologisch-Chemischen Analyse" von Hoppe-Seyler/Thierfelder (1924. Verlag J. Springer-Berlin) entnommen.

mit 20%iger Salzsäure im Wasserbad erhitzt. Dann wird auf dem Wasserbad eingedampft und der sirupöse Rückstand in Wasser gelöst. (Diese Lösung enthält noch viel Salzsäure und eignet sich nicht ohne weiteres zum Ausfällen des zur Isolierung geeigneten Leucinkupfers). Die Lösung wird mit einem Überschuß von frisch gefälltem Silberoxyd geschüttelt und filtriert; das Filtrat wird mit Schwefelwasserstoff vom Silber befreit. Hierauf wird eingedampft, wobei sich der Geruch von Isoamylamin bemerkbar macht. Der Rückstand gibt weiße, blätterige Kristalle von racemischem Leucin. Dies wird zur weiteren Charakterisierunng in das Kupfersalz verwandelt: es wird in viel Wasser gelöst und mit Kupfercarbonat kurze Zeit gekocht. Beim Stehen in der Kälte fällt das fast unlösliche Leucinkupfer aus. Seine Trennung vom Kupfercarbonat wird dadurch erreicht, daß man den durch Absaugen isolierten Niederschlag mit viel Wasser auskocht. Dabei geht nur das Leucinkupfer in Lösung. Beim Abkühlen des Filtrats und nach Einengen der Flüssigkeit kristallisiert das Leucinkupfer in seiner typischen Kristallform aus. Es wird abgesaugt und im Vakuum bei 100° getrocknet.

2,720 mg Sbst. geben 0,680 mg CuO

$(C_6H_{12}O_2N)_2Cu$ (323,3) Ber.: 20,10% Cu

Gef.: 19,98.

Die Ausbeute an Leucinkupfer entspricht nicht der Menge des angewandten Leucins. Das Auftreten des Isoamylamingeruchs deutet darauf hin, daß ein Teil des Leucins zersetzt wurde (Decarboxylierungsprozeß).

Isoleucin.

Das d-Isoleucin soll ebenso wie das l-Leucin ziemlich schwer racemisierbar sein.

0,1 g in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst zeigten im 2 dcm-Rohr: $\alpha = +2,25^0$; $[\alpha]_D$ = etwa $+34^0$.

1. Versuch: 0,1 g mit 2 ccm des Acetylchloridgemisches 1 Stunde auf 100° erhitzt und wie oben weiter verarbeitet: $\alpha = 0^0$.

2. Versuch: 0,1 g ebenso 30 Minuten erhitzt: $\alpha = 0^0$.

Asparaginsäure.

l-Asparaginsäure soll mit Wasser auf 170 bis 180° erhitzt nach einiger Zeit racemisch werden, dagegen nicht beim Erhitzen mit Mineralsäuren.

0,1 g l-Asparaginsäure in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst zeigten im 2 dcm-Rohr: $\alpha = +1,4^0$; $[\alpha]_D$ = etwa $+21^0$.

1. Versuch: 0,1 g mit Acetylchloridgemisch 4 Stunden auf 100° erhitzt zeigen in 3 ccm 10%iger Salzsäure: $\alpha = -0,8^0$.

2. Versuch: Ebenso, 30 Minuten erhitzt: $\alpha = -0,8^0$.

3. Versuch: Die erhaltene linksdrehende Verbindung wird zur Hydrolyse mit 10%iger Salzsäure 3 Stunden auf 100° erhitzt. Im 2 dcm-Rohr ist $\alpha = 0^0$. (l-Asparaginsäure selbst, mit 10%iger Salzsäure 3 Stunden auf 100° erhitzt, bleibt optisch unverändert).

l-Asparaginsäure wird also mindestens schon nach 30 Minuten stark verändert, die Drehungsrichtung wechselt von rechts nach links. Die linksdrehende Substanz wird beim Erhitzen mit 10%iger Salzsäure inactiv.

Glutaminsäure.

d-Glutaminsäure soll durch Barytwasser beim Erhitzen auf 170° racemisiert werden können.

0,1 g d-Glutaminsäure in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst zeigten im 2 dcm-Rohr: $\alpha = +1{,}85^0$; $[\alpha]_D$ = etwa $+28^0$.

1. Versuch: 0,1 g d-Glutaminsäure mit Acetylchloridgemisch 1 Stunde auf 100° erhitzt, abgedampft und in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst zeigen im 2 dcm-Rohr: $\alpha = -0{,}5^0$.

Die Lösung in 10%iger Salzsäure wird 3 Stunden auf 100° erhitzt: $\alpha = +1{,}05^0$.

2. Versuch: 0,1 g mit Acetylchloridgemisch 2 Stunden auf 100° erhitzt. In der Flüssigkeit findet sich eine geringe Kristallabscheidung; mit dieser zusammen wird eingedampft und in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst: $\alpha = -0{,}2^0$.

3. Versuch: 0,1 g nach 4stündigem Erhitzen mit Acetylchloridgemisch, Abdampfen und Lösen in 3 ccm 10%iger Salzsäure: $\alpha = 0^0$.

Es zeigt sich demnach, daß d-Glutaminsäure durch das Erhitzen mit Acetylchloridgemisch in 4 Stunden optisch inaktiv wird. Bei kürzerem Erhitzen bildet sich eine linksdrehende Verbindung, die bei der Hydrolyse mit Salzsäure rechtsdrehend wird.

Arginin.

d-Arginin soll schwer racemisierbar sein; erst beim Erhitzen mit starker Schwefelsäure soll die Racemform entstehen.

0,1 g in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst zeigten im 2 dcm-Rohr: $\alpha = +1{,}2^0$; $[\alpha]_D$ = etwa $+18^0$.

1. Versuch: 0,1 g mit Acetylchloridgemisch 2 Stunden auf 100° erhitzt, abgedampft und in 10%iger Salzsäure gelöst: $\alpha = 0^0$.

2. Versuch: Dasselbe nach einstündigem Erhitzen: $\alpha = 0^0$.

Ornithin.

d-Ornithin soll verhältnismäßig schwer racemisierbar sein. Empfohlen wird Erhitzen mit Schwefelsäure auf Temperaturen oberhalb 100°.

d-Ornithindichlorhydrat: Als 0,1 g dieser Substanz mit Acetylchloridgemisch 2 Stunden auf 100° erhitzt waren, hatten sich nur Spuren gelöst; die Drehung in 10%iger Salzsäure war fast unverändert. Erst bei etwa 16stündigem Erhitzen entstand aus der Substanz ein mit Kristallen durchsetzter Sirup, der in 10%iger Salzsäure noch schwach positiv drehte[2]).

d-Ornithinacetat: Da das Chlorhydrat sich sehr schwer im Acetylchloridgemisch löst, das freie Ornithin in reinem Zustand nur schwierig zu erhalten ist, wurde aus dem Chlorhydrat das Acetat in üblicher Weise hergestellt. Es ließ sich in hübschen Kristallen gewinnen.

0,1 g Acetat in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst zeigten im 2 dcm-Rohr: α + 0,85°; $[\alpha]_D$ etwa + 13°.

1. Versuch: 0,1 g Acetat mit Acetylchloridgemisch 1 Stunde auf 100° erhitzt, abgedampft und in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst zeigen: α = + 0,28°.

2. Versuch: 0,1 g 3 Stunden erhitzt: α = + 0,2°. Diese Lösung wird durch Zugabe von konzentrierter Salzsäure auf einen Gehalt von 20% Salzsäure gebracht, dann 4 Stunden auf 100° erhitzt: α = 0°.

3. Versuch: 0,1 g werden mit dem Acetylchloridegmisch 3 Stunden erhitzt. Danach wird im Vakuum eingedampft, der Rückstand wird in kalter 5%iger Salzsäure gelöst. Auf Zusatz von 50%iger Goldchloridlösung entsteht ein kristallisierter Niederschlag von der Formel $C_9H_{12}N_2O_2 \cdot HAuCl_4$[3]).

Das Chlorhydrat des d-Ornithins wird wegen seiner Schwerlöslichkeit im Acetylchloridgemisch nur sehr langsam verändert. Das Acetat löst sich leichter, es wird rasch in eine zwar noch schwach aktive Form verwandelt, die bei der Hydrolyse mit Salzsäure ziemlich schnell optisch inaktiv wird. Es bildet sich beim Behandeln mit dem Acetylchloridgemisch eine zyklische Verbindung von der Formel

---

2) Wurde der durch Eindampfen gewonnene Rückstand in 10%iger Salzsäure gelöst und mit Goldchlorid versetzt, so fiel ein kristallisiertes Chloroaurat von der Formel $C_9H_{12}N_2O_2 \cdot HAuCl_4$ (s. Formel S. 5) aus. Die Ausbeute an diesem Salz war im Verhältnis zum angewandten Ornithin gering. Wie schon erwähnt, dürfte dies ringförmige Zwischenprodukt vielleicht den Prototyp für die Racemisierung der Aminosäuren schlechthin darstellen.

3) Wrede, l. c. — Ebenso wie bei Verwendung von Ornithin*chlorid* bildet sich aus Ornithin*acetat* das intermediäre Produkt von der Formel $C_9H_{12}N_2O_2$, aber auch nicht in besserer Ausbeute als dort. Da sich das Ornithinacetat im Acetylchloridgemisch viel rascher löst, ist hier dreistündiges Erhitzen genügend. Die Beobachtung, daß sich immer nur relativ geringe Mengen des Körpers $C_9H_{12}N_2O_2$ isolieren lassen, spricht dafür, daß er bald nach seiner Entstehung wieder zersetzt wird: es dürfte sich zwischen ihm und der Aminosäure wohl ein Gleichgewichtszustand einstellen.

$C_9H_{12}N_2O_2$, die isoliert werden und aus der durch Hydrolyse mit Salzsäure d,l-Ornithin gewonnen werden konnte.

Lysin.

d-Lysin soll durch 15stündiges Kochen mit 20%iger Salzsäure racemisierbar sein: Die Lösungsverhältnisse vom Chlorhydrat gleichen denen des Ornithinchlorhydrates. Es wird deshalb ebenso wie beim d-Ornithin das d-Lysinacetat dargestellt. Dieses offenbar bisher noch nicht beschriebene Salz konnte in schön kristallisierter Form erhalten werden.

0,1 g d-Lysinacetat in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst zeigten im 2 dcm-Rohr: $\alpha = +0{,}80^0$; $[\alpha]_D$ – etwa $+12^0$.

1. Versuch: 0,1 g Acetat werden im Acetylchloridgemisch 1 Stunde auf 100° erhitzt. Es schied sich ein Syrup ab. Nach Abdampfen wird der Rückstand in 10%iger Salzsäure gelöst: α 0^0.

2. Versuch: 0,1 g werden wie bei Versuch 1 behandelt. Der Rückstand gibt in kalter 10%iger Salzsäure gelöst mit Goldchlorid einen kristallisierten Niederschlag von der Formel $C_{10}H_{14}N_2O_2 \cdot HAuCl_4$[4]).

3. Versuch: 0,1 g werden ebenso wie bei Versuch 1 behandelt. Der Rückstand wird in 20%iger Salzsäure gelöst, 4 Stunden auf 100° erhitzt, dann auf dem Wasserbade eingedampft. Der Rückstand wird in Alkohol gelöst und filtriert. Auf Zusatz von Aceton kristallisiert reines d, l-Lysin vom verlangten Schmelzpunkt 187° aus.

d-Lysin wird durch Acetylchloridgemisch viel schneller als d-Ornithin racemisiert. Es läßt sich dabei das Entstehen einer ringförmigen Verbindung (Formel analog wie die des Ornithins s. S. 5) nachweisen, durch welche die Racemisation ohne weiteres erklärt wird. Aus dieser Verbindung kann durch Hydrolyse mit Salzsäure leicht racemisches Lysin gewonnen werden.

Histidin.

l-Histidin soll sehr schwer racemisierbar sein. Das l-Histidin-*chlorhydrat* war im Acetylchloridgemisch fast völlig unlöslich, es wurde daher das *freie* l-Histidin verwandt.

0,1 g freies l-Histidin in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst zeigten im 2 dcm-Rohr $\alpha = +0{,}55^0$; $[\alpha]_D$ = etwa $+8{,}2^0$

1. Versuch: 0,1 g l-Histidin werden im Acetylchloridgemisch 4 Stunden auf 100° erhitzt. Es bildet sich ein mit Kristallen durchsetzter Sirup. Nach Abdampfen wird der ganze Rückstand in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst: $\alpha = 0^0$.

4) Wrede l. c. Die Ausbeute an dem Chloroaurat ist wesentlich besser als die beim Ornithin, wenn sie auch bei weitem nicht der Theorie entspricht.

2. Versuch: Nach 1stündigem Erhitzen: $\alpha = 0^0$.

3. Versuch: Die inaktivierte Substanz wird 3 Stunden mit 20%iger Salzsäure auf 100° erhitzt. Aus dieser Lösung läßt sich Histidin nicht isolieren. Auch sind die chrakteristischen Reaktionen nur schwach positiv (Diazoreaktion, Reaktionen mit Goldchlorid und mit Pikrinsäure).

Tyrosin.

Die Racemisierung von l-Tyrosin soll durch 16-stündiges Kochen mit 33%iger Schwefelsäure noch nicht gelingen, dagegen durch längeres Erhitzen mit Barytwasser auf 170°.

0,1 g in 3 ccm 20%iger Salzsäure gelöst zeigten im 2 dcm-Rohr: $\alpha = -0{,}6^0$; $[\alpha]_D$ = etwa 9^0.

1. Versuch: 0,1 g im Acetylchloridgemisch 2 Stunden auf 100° erhitzt, abgedampft und in 20%iger Salzsäure gelöst zeigen $\alpha = 0^0$.

2. Versuch: Ebenso, 1 Stunde erhitzt: $\alpha = 0^0$.

3. Versuch: Ebenso, ¼ Stunde erhitzt: $\alpha = -0{,}08^0$.

4. Versuch: 0,1 g werden im Acetylchloridgemisch 4 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt, nach dem Abdampfen wird der Rückstand in 20%iger Salzsäure gelöst: $\alpha = -0{,}5^0$.

Die inaktivierte Substanz läßt sich leicht auf racemisches Tyrosin verarbeiten. Sie wird mit 20%iger Salzsäure 3 Stunden auf 100° erhitzt, dann eingedampft. Der Rückstand wird in wenig Wasser gelöst, mit Tierkohle entfärbt und mit Natriumacetatlösung versetzt, wobei derbe Kristalle ausfallen. Diese werden zur weiteren Reinigung mit Ammoniak gelöst. Beim Ansäuern mit Essigsäure fällt das racemische Tyrosin in rein weißen Nadeln aus.

4,864 mg Sbst. geben 10,615 mg CO_2 + 2,75 mg H_2O

$C_9H_{11}NO_3$ (181,1)	Ber.:	59,64% C	6,12% H
	Gef.:	59,51	6,33

Es handelt sich also nach der Analyse um reines Tyrosin.

Beim Zugeben von Acetylchloridgemisch zu l-Tyrosin wurde eine eigentümliche Beobachtung gemacht: Das Tyrosin löst sich auf; nach wenigen Sekunden kristallisiert in reichlicher Menge eine neue Substanz in weißen Nadeln aus. Diese Kristalle werden im Vakuumexsiccator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und analysiert.

4,672 mg Sbst. geben 8,681 mg CO_2 + 2,31 mg H_2O
1,784 „ „ „ 0,242 „ Cl

$C_{11}H_{13}NO_4 \cdot HCl$ (259,6)	Ber.:	50,85% C	5,44% H	13,66% Cl
	Gef.:	50,67	5,53	13,56

Es handelt sich nach der Analyse offenbar um das bisher noch unbekannte Chlorhydrat des am *Sauerstoff acetylierten l-Tyrosins.*

Die Substanz kristallisiert in feinen weißen Nadeln; sie ist nicht hygroskopisch, löst sich leicht im Wasser. Auf Zusatz von *wenig* Ammoniak entsteht ein nicht kristallisierter Niederschlag (freies O-Acetyl-l-Tyrosin). Beim kurzen Stehen mit *überschüssigem* Ammoniak wird die Acetylgruppe leicht abgespalten, wobei das l-Tyrosin wieder auskristallisiert. — Das Chlorhydrat schmilzt unscharf bei etwa 245°.

l-Tyrosin gibt bei Zugabe des Acetylchloridgemisches in der Kälte das schön kristalliserte Chlorhydrat vom Acetyl-l-Tyrosin. Beim Erhitzen mit Acetylchlorid auf 100° geht diese Verbindung in wenigen Minuten in Lösung, schon nach 15 Minuten ist annähernd volle optische Inaktivität erreicht. Aus dem entstandenen Produkt läßt sich nach der Hydrolyse das racemische Tyrosin leicht isolieren.

Prolin.

l-Prolin soll verhältnismäßig leicht, schon durch Erhitzen mit Barytwasser auf 140° racemisierbar sein.

0,1 g l-Prolin in 3 ccm 20%iger Salzsäure gelöst zeigten im 2 dcm-Rohr: $\alpha = -4{,}25°$; $[\alpha]_D$ = etwa $-64°$.

1. Versuch: 0,1 g im Acetylchloridgemisch 2 Stunden auf 100° erhitzt, abgedampft und in 20%iger Salzsäure gelöst: α 0°.

2. Versuch: Dasselbe bei nur 15 Minuten langem Erhitzen: $\alpha = 0°$.

Oxyprolin.

l-Oxyprolin ist sehr schwer racemisierbar. Durch Erhitzen mit Säuren oder Laugen wird nur das eine der im Molekül vorhandenen beiden asymmetrischen Kohlenstoffatome racemisiert[5]).

0,1 g in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst zeigten im 2 dcm-Rohr: $\alpha = -3{,}0°$; $[\alpha]_D$ = etwa $-45°$.

1. Versuch: 0,1 g im Acetylchloridgemisch 2 Stunden auf 100° erhitzt, abgedampft und in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst: $\alpha = +0{,}5°$.

2. Versuch: Dasselbe bei zehnstündigem Erhitzen: $\alpha = +0{,}4°$.

3. Versuch: Die aus dem 2. Versuch erhaltene Lösung wird durch Zusatz von konzentrierter Salzsäure auf einen Gehalt von etwa 20 % Salzsäure gebracht, 4 Stunden auf 100° erhitzt und eingedampft. Der Rückstand wird in 3 ccm Wasser gelöst und mit Tierkohle entfärbt. Die Drehung ist kaum merklich negativ, so daß man den Eindruck der Inaktivität haben könnte. Die Lösung wird nun im Vakuumexsiccator eingedampft, wobei sich weiße Kristallnadeln abschei-

5) Leuchs u. Mitarb. Chem. Ber. 41, 1726, 1908. 45, 1960, 1912. 46, 986, 1913. 52, 2086, 1919.

den. Diese werden von der sirupösen Mutterlauge mit kaltem Alkohol getrennt und getrocknet. Sie geben folgende Analyse.

4,768 mg Sbst. geben 5,62 mg CO_2 + 2,79 mg H_2O
3,16 „ „ „ 0,595 „ Cl
$C_5H_9NO_3 \cdot HCl + H_2O$ (185,5) Ber.: 32,32% C 6,50% H 19,10% Cl
Gef.: 32,14 6,55 18,84

Die Kristalle zeigen einen Schmelzpunkt von etwa 120°.

Bei der Polarisation zeigen sie die ziemlich starke Rechtsdrehung von $[\alpha]_D$ = etwa + 12°. Es handelt sich also wohl um das Chlorhydrat des nur am α-Kohlenstoffatom racemisierten Oxyprolins, das nach den Feststellungen von Leuchs Rechtsdrehung hat. Die syrupöse Mutterlauge zeigt hingegen erhebliche Linksdrehung. In ihr ist vielleicht noch unverändertes l-Oxyprolin vorhanden. Zufälligerweise zeigt das Gemisch der rechtsdrehenden und linksdrehenden Fraktion (Kristalle und syrupöse Mutterlauge) annähernd optische Inaktivität an.

Dioxyphenylalanin.

0,1 g l-Dioxyphenylamin in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst zeigten im 2 dcm-Rohr: $\alpha = -0{,}8°$; $[\alpha]_D$ = etwa $-12°$.

1. Versuch: 0,1 g im Acetylchloridgemisch 2 Stunden auf 100° erhitzt, abgedampft und in 10%iger Salzsäure gelöst zeigen: $\alpha = 0°$.

2. Versuch: Dasselbe bei halbstündigem Erhitzen: $\alpha = 0°$.

Tryptophan.

l-Tryptophan soll durch 12stündiges Erhitzen mit 25%iger Salzsäure auf 170° racemisiert werden können.

0,1 g in 3 ccm n-Natronlauge gelöst zeigten im 2 dcm-Rohr: $\alpha = +0{,}2°$; $[\alpha]_D = +3°$.

1. Versuch: 0,1 g im Acetylchloridgemisch 2 Stunden auf 100° erhitzt, abgedämpft, in n-Natronlauge gelöst und mit Tierkohle gereinigt: $\alpha = 0°$.

l-Tryptophan wird offenbar schnell durch Acetylchloridgemisch racemisiert, die ziemlich starke Dunkelfärbung läßt allerdings auf eine nicht unerhebliche Zersetzung schließen.

Cystin.

l-Cystin soll ziemlich schwer racemisierbar sein. Es bedarf sehr langdauernden Erhitzens mit konzentrierter Salzsäure. Cystin ist die einzige Aminosäure, die nach den geschilderten Methoden nicht zur Umsetzung zu bringen war, da sich die Substanz im Acetylchloridgemisch durchaus nicht löste. Beim Erhitzen im zugeschmolzenen Glasrohr auf 140° trat Verkohlung ein.

Cystein.

Das freie l-Cystein ist nicht ohne weiteres racemisierbar, da es sich unter Entwicklung von Schwefelwasserstoff zersetzt.

0,1 g l-Cystein in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst zeigten im 2 dcm-Rohr: $\alpha = -0{,}52^0$; $[\alpha]_D$ = etwa 5 .

1. Versuch: 0,1 g l-Cystein werden 3 Stunden mit Acetylchloridgemisch auf 100° erhitzt. Eine kleine Menge ist ungelöst geblieben und wird entfernt. Der Abdampfrückstand in 3 ccm 10%iger Salzsäure gelöst zeigt: $\alpha = 0^0$.

Zur Quellenkunde:

H. Landolt, Das optische Drehungsvermögen organischer Substanzen. Braunschweig 1898. 2. Aufl.

V. Meyer u. *Paul Jacobson,* Lehrbuch der organischen Chemie, Bd. I. Berlin 1922. 3. Aufl.

Hoppe-Seyler/Thierfelder, Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, Berlin, 1924. 2. Aufl.

Abderhalden und Mitarb. *Zt. f. physiolog. Chemie,* 149 bis 176, (1925 bis 1928).

Bergmann und Mitarb. *Zt. f. physiolog. Chemie,* 131 (1923); 137 (1924); 159 (1926); 167 (1927); 175 (1928). *Bioch. Z.* 203 (1928); *Chem. Ber.* 62 (1929); 63 (1930).

Dakin, Il. Biol. Chem. 78, 1928.

Karrer u. Mitarb. Helv. Chim. Act. 5 (1922); 7 (1924); 8 (1925); 11 (1928).

Leuchs u. *Mitarbeiter,* Chem. Ber. 46 (1913); 54 (1921).

Levene u. *Mitarbeiter,* Il. Biol. Chem. 63, 68, 70, 74, 76, 78 und 82. (1925 bis 1929).

Mc Kenzie u. *Mitarbeiter,* Chem. Soc. (London) 115 bis 125 (1920 bis 1924). Chem. Ber. 58, 60 u. 62 (1925, 1927, 1929).

Lebenslauf.

Ich bin am 5. Februar 1890 zu Wülfrath (Rhld.) als Sohn des Sparkassendirektors Robert Jansen geboren. Nach der Volks- und Bürgerschule zu Wülfrath besuchte ich von Untertertia ab das Realgymnasium zu Elberfeld und bestand dort am 2. 3. 1909 die Reifeprüfung. Von 1909 bis 1913 studierte ich in Berlin, Genf, Marburg und Greifswald Deutsch, Französisch und Philosophie. 1913 erwarb ich in Greifswald die Doktorwürde der Philosophischen Fakultät mit einer Arbeit über Wilhelm Raabe. Von 1914 bis 1916 war ich Soldat, lebte dann als freier Schriftsteller in Hamburg, Wülfrath, Wolfenbüttel, Braunschweig, Berlin, Lindenberg und begann 1923 in Greifswald das Studium der Medizin. Mit Ausnahme des Wintersemesters 1928/29 (in Berlin) studierte ich in Greifswald, wo ich am 14. Juli 1930 die medizinische Staatsprüfung bestand.

Anregung und Anleitung zu vorliegender Arbeit gab mir Herr Prof. Wrede. Ihm und den Herren, die mir Lehrer waren und Freunde wurden, verdanke ich viele treffliche und währende Stunden.

Werner Jansen